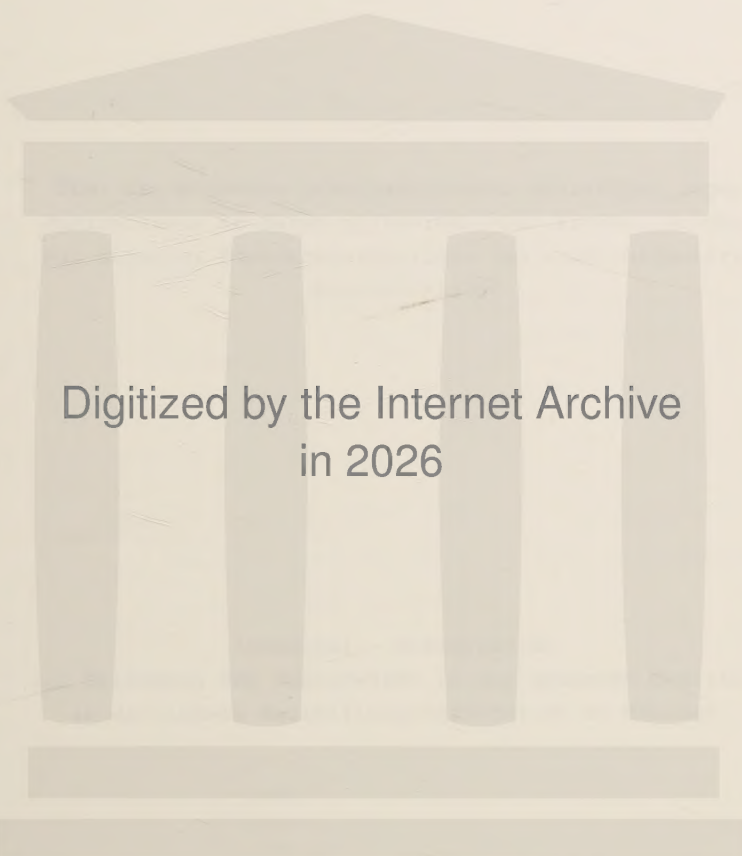


Über den Nachweis präzipitierender Antikörper
gegen Mehlextrakte im Serum cöliakiekranker
Kinder, solcher mit normaler Dünndarm-
morphologie und nicht biopsierter Kontrollkinder

Brigitte Carrier

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Pädiatrischen Klinik der Universität München
im Dr. von Haunerschen Kinderspital
Direktor: Professor Dr. K. Betke

Über den Nachweis präzipitierender Antikörper gegen
Mehlextrakte im Serum cöliakiekranker Kinder, solcher
mit normaler Dünndarmmorphologie und nicht biopsierter
Kontrollkinder

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Brigitte Carrier
aus Ulm

1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. med. K. Harms
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. med. K. Betke
Dekan:	Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 31.1.1978



DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

Inhaltsverzeichnis

Seite

I. Zum Krankheitsbild der Cöliakie

A) Geschichte der Cöliakie	1
B) Klinik der Cöliakie	2
C) Laboruntersuchungen und spezielle Cöliakiediagnostik	3
D) Therapie der Cöliakie	10
E) Definition der Cöliakie	11
F) Zur Pathogenese der Cöliakie	11

II. Eigene Untersuchungen

A) Problemstellung	15
B) Die Methodik der Antikörperbe- stimmung	16
C) Patientengut	19
D) Ergebnisse	20
E) Diskussion	26
F) Zusammenfassung	32

Literaturverzeichnis	33
----------------------	----

I. Zum Krankheitsbild der Cöliakie:

A) Geschichte der Cöliakie

Im Jahre 1888 beschrieb der Engländer Samuel Gee (39) erstmals das Krankheitsbild der Cöliakie und gab als Hauptsymptome an: zunehmende Anorexie, voluminöse, glänzende, übelriechende Stühle, großer aufgetriebener Bauch, Adynamie und psychische Verstimmung. Nach der 1908 von Herter in New York herausgegebenen Veröffentlichung: "On infantilism from chronic intestinal infections" (44) fand die Krankheit in der deutschsprachigen Literatur Eingang unter der Bezeichnung "Herterische Krankheit" oder "Intestinaler Infantilismus". 1909 beschrieb Heubner (45) die Krankheit als "schwere Verdauungsinsuffizienz bei Kindern jenseits des Säuglingsalters". 1927 führten Lehndorff und Mautner (55) den von Gee benützten Namen "Cöliakie" ein.

Alle Autoren sahen bereits damals einen Zusammenhang zwischen der Nahrung und einer Verschlimmerung bzw. Besserung der Krankheitssymptome und machten Diätvorschläge. Schon Gee hielt Mehl, Reis, Mais und Sago für schlecht, Herter stellte fest, daß Kohlehydrate am wenigsten vertragen wurden, Haas (41) schlug eine Bananendiät vor, und Fanconi (32) erzielte gute Therapieerfolge mit einer Früchte-Gemüse-Buttermilchdiät.

Erst die konsequente klinische Suche nach dem schädlichen Agens durch den Holländer W. K. Dicke brachte Klarheit in die Diät-empirie. Mit seiner Dissertation: "Coeliakie. Een onderzoek naar de naadelige invloed van sommige graansorten op de lijder aan coeliakie" (22) machte er deutlich, daß Weizenmehl Cöliakiekranken schadet. Gemeinsam mit Weijers und van de Kamer (23) fand er heraus, daß der eigentlich schädliche Anteil des Weizens sein Kleber und hier das Gliadin ist. Inzwischen wissen wir, daß auch Roggen-, Gersten- und wahrscheinlich auch Hafergluten dem Cöliakiekranken schaden.

Obwohl nun die Krankheit durch Glutenentzug heilbar war, blieb es noch bis Ende der 50er Jahre unklar, welche Wirkung das Gluten bei Cöliakiekranken ausübt. Erst mit der Einführung der Dünn-

darmsaugbiopsie durch Margot Shiner 1956 (89, 90) wurde es möglich, den Ort der Glutenwirkung zu identifizieren und die Veränderungen bei der Cöliakie zu beurteilen. Es zeigte sich, daß die Dünndarmmucosa Cöliakiekranker charakteristisch verändert ist. Sie ist in der Regel völlig abgeflacht und zottenlos und weist erhebliche Entzündungszeichen auf.

Bis heute ist es noch ungeklärt, auf welchem Wege die Dünndarmschädigung zustandekommt, die verschiedenen Hypothesen werden in Abschnitt I/F diskutiert.

B) Klinik der Cöliakie

Nach anfänglichem Wohlergehen fällt der cöliakiekranke Säugling wenige Wochen bis Monate nach dem Beginn der glutenhaltigen Ernährung durch eine Gedeihstörung, Appetitlosigkeit und gelegentliches Erbrechen auf. Die häufigen, meist massigen und hellen Stühle kontrastieren zur geringen Nahrungsaufnahme. Nicht immer haben die Kinder Durchfälle, nur bei der Hälfte der Patienten sind die Stühle konstant verändert. Zehn Prozent neigen sogar zur Obstipation. Bei fortschreitender Erkrankungsdauer tritt die Leibblähung immer deutlicher hervor, während der übrige Körper abmagert. Hinzu kommt eine ausgesprochene Muskelhypotonie und psychische Labilität. Die übermäßige Blässe fällt bei nahezu allen Kindern auf und geht nicht immer mit einem niedrigen Hämoglobinwert einher. Gelegentlich werden Eiweißmangelödeme beobachtet.

Keines der genannten Symptome ist cöliakiespezifisch, so daß immer der Versuch unternommen werden sollte, den Verdacht auf die Erkrankung durch Laboruntersuchungen zu stützen.

C) Laboruntersuchungen und spezielle Cöliakiediagnostik

Als Folge der Malabsorption findet sich bei fast allen Patienten ein erniedrigter Serumeisenwert unter $60\mu\text{ g}/100\text{ ml}$ und häufig eine Eisenmangelanämie. Dazu gesellt sich oft eine Hypoproteinämie und eine Hypcholesterinämie. Als Ausdruck der mangelhaften Calciumabsorption findet sich in der Regel eine Osteoporose. Der Serumcalciumspiegel ist seltener erniedrigt. Obwohl die fettlöslichen Vitamine ebenfalls vermindert aufgenommen werden, findet sich selten ein zur Rachitis führender Vitamin D-Mangel.

Unspezifische Absorptionstests:

1. Der d-Xylosetest

Die d-Xylose wird über den Hexose-Transportmechanismus der Dünndarmepithelzelle aus der Nahrung in den Körper überführt. Da diese Substanz im Stoffwechsel des Organismus normalerweise nicht vorkommt, eignet sie sich besonders zur Untersuchung der Absorptionsfähigkeit der Epithelzelle. Von der absorbierten Menge gehen etwa 60% in den Stoffwechsel ein, 40% werden mit dem Urin wieder ausgeschieden. Die Absorptionsrate hängt von einer intakten Dünndarmmucosa, der Testdosis und der Verweildauer im Darm ab. Sie ist von der Gallen-, Darm- und Pankreassekretion unabhängig (4). Darm-, Nieren-, Leber- und Schilddrüsenerkrankungen stören die Verstoffwechselung.

Nachdem die Kinder mindestens acht Stunden nüchtern waren, wird ihnen $1/2\text{ g/kg KG}$ d-Xylose verabreicht. Grundsätzlich läßt sich dann das absorbierte Quantum nach zwei Methoden messen (42, 77): entweder ein bis zwei Stunden nach der Applikation im Kapillar- oder venösen Blut oder nach der im Urin wieder ausgeschiedenen Menge innerhalb von fünf Stunden. Für das erstere gilt ein Normgrenzwert von $25\text{ mg}/100\text{ ml}$ eine Stunde nach der oralen Applikation, für die zweite Methode weniger als 10% Wiederfindung im 5-Stunden-Urin. Etwa 80% der unbehandelten Cöliakiepatienten im Säuglings- und Kleinkindesalter haben pathologische d-Xyloseteste.

2. Die quantitative Stuhlfettbestimmung

Die mikroskopische Stuhlfettbestimmung ist nur noch von historischer Bedeutung. Mit ihrer Hilfe kann die Cöliakie weder bewiesen noch ausgeschlossen werden.

Eine wesentlich größere Bedeutung kommt der quantitativen Stuhlfettbestimmung zu. Hier hat sich die Methode nach van de Kamer besonders bewährt (103). Den Patienten wird eine definierte Fettmenge verabreicht und während der Standardernährung das wieder ausgeschiedene Fett in Stühlen von drei Tagen quantitativ bestimmt. Aus der Differenz zwischen Fettaufnahme und -ausscheidung läßt sich der Fettretentionskoeffizient wie folgt bestimmen:

$$\text{Fettretentionskoeffizient} = 100 \times \frac{\text{aufgenommenes} - \text{ausgeschiedenes}}{\text{aufgenommenes}} \quad \text{Fett}$$

Bei gesunden Kindern beträgt der Fettretentionskoeffizient 95% und mehr. Bei Kindern mit einer Cöliakie ist er stark erniedrigt.

In vereinfachter Form lassen sich auch dreimal 24-Stunden-Stühle unter einer Standarddiät untersuchen. Bei cöliakiekranken Patienten ist die tägliche Ausscheidung über 4g erhöht.

Obwohl die Steatorrhoe bei unbehandelten Cöliakiepatienten fast immer gesteigert ist, handelt es sich doch um keinen spezifischen Test, z.B. wird bei der cystischen Fibrose ebenfalls eine vermehrte Fettausscheidung beobachtet.

Nachweis von Gliadinantikörpern

E. Berger fand 1957 (9) erstmals komplementbindende Antikörper im Serum Cöliakiekranker. In der Folge gelang der Glutinantikörpernachweis auch im Stuhl (40, 48). Zur Erhöhung der Sensibilität und Spezifität des Antikörpernachweises wurden später andere Methoden wie der Hämagglutinationshemmungstest nach Boyden (13) und der Nachweis präzipitierender Antikörper im zweidimensionalen Agardiffusionsstest nach Ouchterlony (71) eingeführt (1, 43, 51, 104).

Die Dünndarmsaugbiopsie

Für die Durchführung der Biopsie wurden verschiedene Sonden entwickelt. Alle Sonden beruhen auf folgendem Prinzip: am distalen Ende eines mehr oder weniger flexiblen Schlauches ist eine perforierte Kapsel angebracht, in deren Inneres die Schleimhaut angesogen wird. Bei der Crosby-Kapsel wird der Schneidemechanismus des Messers über einen Luftsog ausgelöst (21), bei der Sonde nach Brandborg wird das zylindrische Messer durch Zug an einem durch die Sonde laufenden Stahldrath aktiviert (14), oder der Kapselschluß erfolgt über ein hydraulisches System (Baker und Hughes (6)).

Im Kindesalter wird der Modifikation nach Crosby der Vorzug gegeben. Der Vorteil dieses Systems ist die gute Flexibilität der Sonde, mit der sich gefahrlos und zuverlässig die Schleimhautprobe gewinnen läßt. Ihr Nachteil ist, daß immer nur eine Schleimhautprobe entnommen werden kann. Für jede weitere Biopsie muß die Sonde neu gelegt werden.

Für die Biopsien unserer Patienten verwendeten wir die sogenannte "pädiatrische Watsonkapsel" (61). Die Fenstergröße beträgt hier nur 2,1 mm im Durchmesser, was zur Sicherheit dieses Instrumentes beiträgt. Nach den Angaben in der Literatur treten mit dieser Kapsel keine der sonst beschriebenen Komplikationen wie Darmperforation, Postbiopsiefieber und Hämorrhagien größeren Ausmaßes auf (73, 87, 95).

Durchführung der Dünndarmsaugbiopsie:

Die Schleimhautproben werden im allgemeinen aus der Gegend der Flexura duodenojejunalis, dem Treitz'schen Winkel entnommen.

Vor dem geplanten Eingriff bleibt der Patient 6-8 Stunden nüchtern. Etwa 1 Stunde vorher wird das Kind prämediziert, indem man 5-10 mg Diazepam (Valium^R) intravenös injiziert. Diese Vorbereitung soll das Kind beruhigen und ihm die sonst unangenehme Pharynxpassage der Sonde erleichtern. Damit die Pyloruspassage einfacher gemacht und die Peristaltik angeregt wird, erhalten Säuglinge und Kleinkinder 5 mg, ältere Kinder 10 mg Metoclopramid (Paspertin^R) vor der Sondenlegung intravenös.

Die Kapselposition wird röntgenologisch kontrolliert. Technische Fehler treten bei einem ordnungsgemäß zusammengesetzten, intakten Instrument selten auf. Die Untersuchung dauert zumeist nicht länger als eine Viertelstunde und erfordert in der Regel keine stationäre Aufnahme der Kinder.

Die frisch entnommene Schleimhautprobe wird in 4%igem, neutral gepuffertem Formol über zwei bis drei Stunden fixiert und dann mit einem Stereomikroskop bei 10-40-facher Vergrößerung beurteilt. Mit dieser Methode läßt sich ein ausgezeichneter räumlicher Eindruck von der Zottenstruktur gewinnen. Der orthograd getroffene histologische Schnitt bringt zusätzliche Information hinsichtlich der Epithelzellen und der Morphologie von Krypten und Lamina propria.

Die normale Mucosa:

Bei der Untersuchung einer frisch entnommenen Schleimhautprobe aus der Gegend des Treitz'schen Winkels finden sich schlanke, hohe, finger- bis blattförmige Zotten, die eine Länge bis zu 0,3 mm erreichen können. Im Jejunum überwiegen die schlanken, fingerförmigen Zotten, im Duodenum die blattförmigen und firstartigen. Die Dünndarmzotten sind von einem dichten Kapillarnetz durchzogen.

Das Dünndarmepithel hat eine hochzylindrische Form und ist lumenwärts durch den Bürstensaum (Microvilli) begrenzt. Die Epithelzellen reifen in den Lieberkühnschen Krypten heran und wandern zur Zottenspitze empor, von wo sie nach einer Lebensdauer von ca. 4 Tagen in das Lumen abgestoßen werden. Der Zellturnover des Dünndarmepithels liegt bei $20-50 \times 10^6$ Zellen/min (75).

Mit Hilfe der verschiedenen Faltenbildungen (Kerckringsche Falten, Dünndarmzotten und Microvilli) erreicht die absorbierende Oberfläche des Dünndarms ein enormes Ausmaß. Beim ausgewachsenen Menschen beträgt die Gesamtfläche ca. 200 m² (15, 50).

In der Lamina propria finden sich reichlich Plasmazellen, eosinophile Granulozyten, Lymphozyten, Makrophagen und gelegentlich Mastzellen.

Die Mucosaveränderungen bei der Cöliakie:

Die Dünndarmschleimhaut ist bei dem cöliakiekranken Kind völlig flach und zottenlos. Die Epithelzellen sind kubisch verkürzt. Ihre Lebenszeit ist erheblich, bis auf 6 Stunden, vermindert (20).

Lupenmikroskopisch sind die Öffnungen der Lieberkühnschen Krypten als grubchenförmige Vertiefungen zu erkennen. Die Krypten selbst sind auf das Dreifache vertieft. Als Ausdruck der angekurbelten Zellneubildung finden sich zahlreiche Mitosen (72).

Die Lamina propria weist eine dichte Zellinfiltration auf, es überwiegen die Plasmazellen und Lymphozyten. Letztere durchwandern in verstärktem Maße die interepithelialen Räume. Es hat den Anschein, als ob den Lymphozyten und Plasmazellen eine besondere Bedeutung zukommt (91).

Bei der elektronenmikroskopischen Betrachtung fällt auf, daß der Bürstensaum seine normale Struktur verloren hat (93). Die Bedeutung der ebenfalls an den geschädigten Epithelien beobachteten vermehrten Lysosomen und Ribosomen ist noch unklar (94).

Ausnahmsweise und fast nur bei erwachsenen Spruepatienten findet man bei der unbehandelten Cöliakie das Bild einer weniger ausgeprägten Mucosaschädigung, die partielle Zottenatrophie. Die Zotten sind verkürzt, plump und oft verschmolzen, das Oberflächenepithel ist ebenfalls kubisch verkürzt.



Abb. 1: Oberflächenbild der normalen Dünndarmmucosa



Abb. 2: Oberflächenbild einer zottenlosen Mucosa bei der Cöliakie

Im Kindesalter hat der Befund einer völlig flachen, zottenlosen Mucosa eine nahezu cöliakiespezifische Bedeutung (46, 53, 86, 87, 95, 108). Nur ausnahmsweise findet man auch bei der Kuhmilchproteinintoleranz ein lupenmikroskopisch identisches Bild (24, 36, 54). Diese Krankheit beginnt jedoch in aller Regel schon bald nach der Geburt, ist sehr viel seltener und verschwindet meist im zweiten Lebensjahr.

Die partielle Dünndarmzottenatrophie ist ein wesentlich uncharakteristischer Befund. Da diese Veränderung bei den Cöliakie- oder Sprue-kranken Erwachsenen sehr viel häufiger zu beobachten ist, müssen hier eine Reihe anderer Krankheiten mit in Betracht gezogen werden.

Nach Rubin, Eidelman und Weinstein (85) finden sich bei folgenden Krankheiten partielle Dünndarmzottenatrophien, die allerdings mancherlei zusätzliche und unterschiedliche morphologische Veränderungen aufweisen können:

- | | |
|------------------------------------|---|
| 1. Hypogammaglobulinämische Sprue: | keine Plasmazellen in der Lamina propria |
| 2. Primäres intestinales Lymphom: | Infiltration von malignen lymphoiden Zellen |
| 3. Whipple'sche Krankheit: | Infiltration von charakteristischen Makrophagen |
| 4. Eosinophile Gastroenteritis: | Infiltration von eosinophilen Leukozyten |
| 5. Zollinger-Ellison-Syndrom: | Infiltration von polymorphkernigen Leukozyten |
| 6. Kollagene Sprue: | eosinophiles Material ist in der Lamina propria abgelagert. |

Charakteristischweise finden sich bei den genannten Krankheiten unterschiedlich schwere Veränderungen in verschiedenen Darmbezirken.

Jede glutengeschädigte Dünndarmmucosa weist einen sekundären Mangel an Disaccharidasen und Dipeptidasen auf. Unter den Disaccharidasen ist die Lactase am stärksten vermindert (57, 59, 97).

D) Therapie der Cöliakie

Schon wenige Tage nach dem Beginn der glutenfreien Ernährung bessert sich das klinische Bild. Als erstes Symptom verschwindet die Wesensveränderung und Übellaunigkeit, das Kind ißt wieder mit Appetit. Mit einer Gewichtszunahme ist aber erst nach zwei bis drei Wochen zu rechnen. Schon nach wenigen Tagen normalisieren sich die unspezifischen Absorptionsteste. So konnten Rolles und Mitarb. (78) zeigen, daß vorher pathologische d-Xylose-Teste innerhalb einer Woche glutenfreier Ernährung auf normale Werte ansteigen. Parallel dazu fanden Yardley und Mitarb. (110) als morphologisches Korrelat bereits nach zehn Tagen eine Zunahme der Epithelzellzahl und eine größere Höhe der Absorptionszellen. Die Wiederherstellung der normalen Zottenhöhe hingegen braucht mehrere Monate (107). Die genannten Untersuchungen machen aber deutlich, daß die normale Zottenhöhe für eine normale Funktion nicht so ausschlaggebend ist wie ein intaktes Epithel.

In klinisch besonders schweren Fällen kann eine Glucocorticoidtherapie zusätzlich zur glutenfreien Ernährung von Nutzen sein.

Gibt man nach längeren Diätphasen von ein bis zwei Jahren wieder eine normale Kost, so entsteht bei neun von zehn Kindern nach sehr unterschiedlichen Zeitintervallen, jedoch im allgemeinen innerhalb von zwei Jahren wieder die charakteristische Dünndarmschleimhautveränderung (64). Nur selten finden sich aber dann wieder die ursprünglich beobachteten klinischen Symptome (68, 88, 96). Die Mehrzahl der Kinder gedeiht normal, hat keine Durchfälle und scheint das Gluten zu tolerieren. Entsprechend dem guten klinischen Zustand fallen auch die Absorptionsteste normal aus. Man kann sich dieses Phänomen am besten so erklären, daß, wie auch nachgewiesen (69, 100), nur der obere Dünndarm morphologisch verändert ist, während der untere Dünndarm morphologisch und funktionell völlig normal ist und die proximalen Ausfälle kompensieren kann. Obwohl die Krankheit klinisch bei der Mehrzahl der vorübergehend glutenfrei ernährten Kinder zunächst stumm bleiben kann, sind Spätfolgen wie

Eisenmangelanämie, Osteoporose und eine verzögerte Pubertät möglich. Während Schwangerschaften kann die Krankheit erneut exacerbieren. Die Lymphom- und Malignomhäufigkeit ist unter Cöliakiekranken im Vergleich zur Normalbevölkerung erhöht (18). Bis jetzt ist es allerdings unklar, ob die lebenslang streng glutenfreie Ernährung das Malignomrisiko senken kann. Dennoch wird man eine solche lebenslange glutenfreie Diät vorerst empfehlen (28).

E) Definition der Cöliakie

Wie wir gesehen haben, ist der Nachweis des schweren Dünndarm-mucosaschadens das sensibelste Diagnostikum. Konsequenter- und logischerweise steht heute daher der Mucosabefund im Zentrum der Cöliakiedefinition (12, 65, 105). Eine Cöliakie gilt heute dann als gesichert, wenn

1. sich bei dem unbehandelten Patienten eine totale Zottenatrophie findet,
2. sich die Mucosa unter einer glutenfreien Ernährung regeneriert und
3. erneut ein Mucosaschaden nach Wiedereinführung einer glutenhaltigen Nahrung auftritt.

F) Zur Pathogenese der Cöliakie

Mit der Entdeckung, daß das Gliadin bei Cöliakiekranken die Dünndarmmucosaschädigung hervorruft, ist der ursächliche Faktor bekannt, ohne daß wir bis heute wissen, auf welchem Wege das Gluten seine schädliche Wirkung entfaltet. Nach wie vor werden zwei Theorien diskutiert: die Toxintheorie und die immunologische Theorie. Die letztere hat in den vergangenen Jahren zunehmend an Wahrscheinlichkeit gewonnen.

1. Die Toxintheorie:

Nach vollständiger saurer Hydrolyse (47) oder einer Vorbehandlung mit rohem Papain (52) geht die schädigende Wirkung des Glutens verloren. Eine peptisch-tryptische Vorverdauung vermag diese jedoch nicht zu nehmen (37). Erst kürzlich wurde erkannt, daß allein die Carboanhydrasen, die das rohe Papain verunreinigen, die toxischen Eigenschaften des Glutens durch die Spaltung der Glycoproteinbindungen nehmen (74). Es ist unwahrscheinlich, daß das Fehlen eines intraluminalen Faktors, der für den Abbau des Glutens wichtig ist, es ermöglicht, daß das Gluten kumuliert und toxisch wirkt. So konnte Rossipal (82) zeigen, daß das Darmsekret Mucoviscidosekranker Gliadin nicht verdauen kann und seine antigenen Eigenschaften erhalten bleiben, während das Sekret Cöliakiekranker keine Unterschiede zu Darmgesunden aufwies, d.h., es zerstörte die antigenen Eigenschaften des Glutens. Da das Gluten bei der cystischen Fibrose durch das Darmsekret nicht abgebaut wird und die Dünndarmmucosa dieser Patienten normal ist, bedeutet dies, daß das Gliadinmolekül per se nicht toxisch wirkt. Theoretisch denkbar wäre es allerdings, daß Gliadinfragmente einen giftigen Einfluß auf die Mucosa ausüben. Hier wurde spekuliert, daß Cöliakiepatienten spezielle Peptidasen der Dünndarmmucosa fehlen, was die Entstehung solcher Gliadinfragmente zuließe. Bis heute wurden aber Dipeptidasenminderungen nur in der geschädigten Mucosa gefunden, die sich, ähnlich wie die Disaccharidasen nach Wiederherstellung der Mucosa unter einer glutenfreien Diät normalisieren (27, 56, 58).

2. Die Immuntheorie:

1958 lenkte E. Berger zum ersten Mal die Aufmerksamkeit auf immunologische Reaktionen im Rahmen der Cöliakie, als er zeigen konnte, daß sich bei Cöliakiekranken besonders hohe Titer komplexbindender Antikörper gegen Gliadin im Serum finden, die unter einer glutenfreien Ernährung abfallen (10). Diese Beobachtungen wurden später mit derselben oder anderen Methoden von zahlreichen Autoren bestätigt (1, 67, 104). Erste Zweifel, daß diese Antikörper mit der Pathogenese der Erkrankung etwas zu

tun haben, kamen auf, als diese auch bei anderen Krankheiten beobachtet wurden (35, 43, 66, 103). Inzwischen haben aber neuere Untersuchungen gezeigt, daß die Bildung von Glutenantikörpern in der wiederhergestellten und reexponierten Mucosa Cöliakiekranker die erneuten Veränderungen an der Dünndarmmucosa einleiten. So konnten Shiner und Shmerling (98), sowie Shiner und Ballard (92) zeigen, daß wenige Stunden nach einer einmaligen Glutenexposition die Mucosa zunächst subepithelial entzündlich anschwillt, und sich an der Basalmembran komplementbindende Antikörper ablagern. Falchuk und Mitarb. (31) ergänzten diese Befunde insofern, als sie die Neubildung von IgM Antikörpern mit Antiglutenspezifität kurze Zeit nach der Exposition in vitro an der entnommenen Mucosa nachweisen konnten. Das Auftreten zirkulierender Immunkomplexe im Serum Cöliakiekranker (25) sowie der Komplementabfall unter einer erneuten Glutenbelastung sind weitere Beobachtungen, die das Vorkommen immunologischer Vorgänge bei der Cöliakie unterstreichen (26, 63, 81).

Die schon früher erwähnte Infiltration der geschädigten Dünndarmmucosa mit Plasmazellen und Lymphozyten verdeutlicht weiterhin die entzündlichen Vorgänge. Inwieweit mehr B- oder T-Lymphozyten an der Entstehung des Mucosaschadens beteiligt sind, läßt sich zur Zeit noch nicht beurteilen. Immerhin scheint den T-Lymphozyten auch eine Rolle bei der Entstehung der Mucosaveränderung zuzukommen, nachdem thymektomierte Tiere auf eine Darminfektion nicht mit einer Schleimhautentzündung und einer partiellen Zottenatrophie antworten können (33, 34).

Schon lange ist die klinische Wirkung von Corticosteroiden bei der Cöliakie bekannt (3). Noch bevor die charakteristische Mucosaveränderung entdeckt worden war, konnten Badenoch und Callender (5) auch unter einer glutenhaltigen Ernährung zeigen, daß Cortison die Absorptionsfähigkeit für Eisen steigert.

Auch das bereits erwähnte gehäufte Vorkommen von Darmlymphomen spricht für eine Beteiligung des lymphozytären Systems.

Neuere Untersuchungen von verschiedenen Arbeitsgruppen berichten über einen bedeutungsvollen Zusammenhang zwischen dem ge-

häufigen Auftreten des HLA-Antigens B8 und der Cöliakie (2, 29, 30, 62, 66). Auch bei anderen Krankheiten mit immunologischen Phänomenen wurden dererlei Assoziationen mit dem HLA-System beobachtet (79).

Das gehäufte Vorkommen bestimmter HLA-Antigene bei der Cöliakie legt in erster Linie nahe, daß die Krankheit etwas mit dem immunologischen System, das offenbar von dem Chromosom Nr. 6 gesteuert wird, zu tun hat. Für die Erklärung, in welcher Form das HLA-System in die Cöliakiepathogenese eingreift, existieren bisher nur Hypothesen. Diese sehen aus wie folgt (102):

1. HLA-Antigene sind als Glycoproteine an den Oberflächen aller Körperzellen und möglicherweise als Rezeptoren für schädigende Stoffe wie z.B. das Gluten, verantwortlich. Das besonders gebundene Gluten führt dann zur immunologischen Abwehrreaktion des Organismus und zur Zerstörung der Mucosa.
2. HLA-Antigene besitzen Gemeinsamkeiten mit Virusantigenen, die zu Kreuzreaktionen führen, so daß das Eindringen eines Virusantigens oder des Gliadins von der Epithelzelle toleriert wird.
3. Die HLA-Antigene sind Marker, die mit cöliakiespezifischen Genen verbunden sind, die die Empfänglichkeit für die Krankheit und die besondere immunologische Reaktion verursachen.

Es bleibt bis heute aber zu bemerken, daß alle immunologischen Vorgänge auch sekundärer Natur sein können, so daß weiterhin nach dem ersten Schritt gesucht werden muß.

II. Eigene Untersuchungen:

A) Problemstellung

Unabhängig davon, daß Glutenantikörpern eine Bedeutung in der Pathogenese der Dünndarmzottenatrophie zuzukommen scheint, wurde immer wieder versucht, den Nachweis von Antikörpern im Serum Cöliakiekranker zu einem brauchbaren spezifischen Kriterium der Diagnostik auszuarbeiten. Die mit verschiedenen immunologischen Untersuchungsmethoden gewonnenen Ergebnisse wiesen jedoch große Unterschiede auf. Offenbar war es nicht gleichgültig, welche Methode des Antikörpernachweises verwendet wurde. Wesentlich häufiger fanden sich positive Ergebnisse bei der Untersuchung auf hämagglutinierende und komplementbindende Antikörper als mit der Präzipitationsmethode. Hinzu kam, daß verschiedene Antigene und Lösungsmittel verwendet wurden, und in der Mehrzahl der Untersuchungen die entscheidende Kontrolle des Befundes durch die biotische Sicherung der Diagnose (siehe Definition) fehlte. E. Rossipal empfahl 1971 eine Kombination von Immunelektrophorese und doppelter Agardiffusion zum Nachweis präzipitierender Antikörper im Serum (80). Mit diesem Verfahren konnte er bei allen von ihm untersuchten Cöliakiepatienten ($n = 15$) präzipitierende Antikörper gegen wässrige Mehlextrakte nachweisen, jedoch bei keiner der Kontrollen. Diese erstaunliche Trennschärfe, die mit keiner anderen Methode vorher erreicht wurde, war nicht mit morphologischen Dünndarmschleimhautbefunden untermauert. Wenn die Rossipal'schen Ergebnisse auch von anderer Seite bestätigt werden könnten, dann würde das praktisch bedeuten, daß es sich bei seiner Glutenantikörperbestimmungsmethode um ein cöliakiespezifisches und hundertprozentiges Testverfahren handeln würde. Dies würde aber wiederum nichts anderes bedeuten, als daß wir ein der Dünndarmsaugbiopsie gleichwertiges Diagnostikum in der Hand halten.

Die Aufgabe der vorliegenden Untersuchung war es daher, die Suche nach präzipitierenden Glutenantikörpern in der von Rossipal angegebenen Weise mit den morphologischen Dünndarmbiopsiefunden zu korrelieren.

B) Die Methodik der Antikörperbestimmung

1. Die Herstellung der Antigenlösungen:

Man bringt 1g Mehl (Weizen, Roggen, Hafer (Milupa)) in 20 ml destilliertem Wasser in Lösung. Die Suspension wird für 30 sec zum Kochen gebracht, danach 5 min bei 2000 Umdrehungen/min zentrifugiert. Der klare oder opaleszierende Überstand wird als Antigen verwendet.

Das Mehl sollte frisch gemahlen, nicht gebleicht und nicht länger als 4 Monate gelagert sein, da danach seine antigenen Eigenschaften, wahrscheinlich aufgrund eines Oxydationsprozesses vermindert werden (83).

2. Die Durchführung des Testes:

2 ml einer 2%igen heißen Agarlösung (1/2 Veronalpuffer mit einem pH von 8,2 und einer Ionenstärke von 0,05 und 1/2 destilliertes Wasser und 2g Agar purum ad 100 ml) werden auf einem Objektträger von 75 x 25 mm Größe ausgegossen. Nach dem Erstarren werden aus dieser Schicht mit dem Korkbohrer 4 kreisrunde Agarzylinder mit einem Durchmesser von 6 mm ausgestanzt und mit einer Nadel herausgehoben. In die entstandenen Reservoirs wird mit der Pipette das zu untersuchende Serum gebracht, so daß diese eben ausgefüllt sind (2 Tropfen). Die mit dem Serum versehenen Objektträger werden in die Elektrophoresekammer eingebracht, und die Elektrophorese wird bei 40 Volt für 20 Minuten durchgeführt. Dabei wandern die Gammaglobuline zur Kathode und werden auf einem kleinen Bezirk konzentriert.

8 mm vom Rand der Serumbehälter entfernt werden nun 4 weitere Zylinder gestanzt und mit Antigenlösung gefüllt. In der feuchten Kammer läßt man die Antigene 20 Stunden gegen die konzentrierten Gammaglobuline diffundieren und bei vorhandenen Antikörpern kommt es zur Präzipitation von Antigen-Antikörper-Komplexen.

Danach werden die Objektträger für 24 Stunden in physiologischer Kochsalzlösung gewässert und dadurch die Serumreste entfernt. Anschließend wird das Gel zu einem glasklaren, hauchdünnen Film

getrocknet. Nach dem Färben mit einer Amidoschwarz-10B-Lösung und dem Entfärben mit Methanol-Eisessig (9 : 1) sind die entstandenen Präzipitationslinien zu beurteilen.

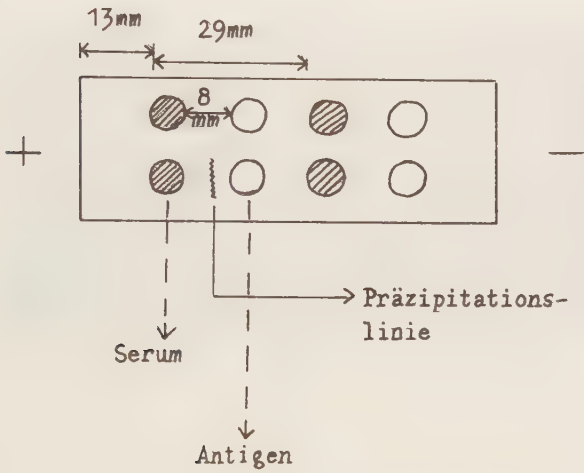




Abb. 3: Nachweis von präzipitierenden Antikörpern im Serum gegen wässrige Mehlextrakte
(l.o.: Weizen, l. u.: Roggen, r.: Hafer)

C) Patientengut

Bei 71 Kindern war wegen eines Cöliakieverdachts oder des Verdachts auf eine andersartige Dünndarmschleimhautveränderung (prim. oder sekund. Disaccharidasemangel etc.) eine Dünndarmsaugbiopsie durchgeführt worden. Alle Mucosaproben wurden lupenmikroskopisch wie histologisch beurteilt.

Von den 36 Mädchen und 35 Buben hatten 43 Kinder, 26 Mädchen und 17 Buben, aufgrund einer zottenlosen Dünndarmmucosa, des klinischen Bildes, weiterer Laboruntersuchungen und des Erfolgs einer glutenfreien Ernährung mit größter Wahrscheinlichkeit eine Cöliakie. Zu bemerken ist, daß auch bei unseren Cöliakiepatienten mehr Mädchen als Buben betroffen waren (1,5 : 1), wie auch in der Literatur von einer gewissen Mädchenwertigkeit der Erkrankung berichtet wird (99, 106).

Bei etwa 2/3 der Cöliakiepatienten war die Diagnose gegen Ende des ersten oder während des zweiten Lebensjahres gesichert worden. Die meisten Kinder erkrankten, nachdem sie zwei bis acht Monate glutenhaltig ernährt wurden.

Alter der Kinder bei Diagnose:

6-9. LM	10.-12.LM	2.LJ.	3.LJ	4.LJ	älter
3	9	16	5	2	8

Möglichst parallel zur Biopsie erfolgte bei den Kindern einmal oder wiederholt nach glutenfreien Intervallen die Serumentnahme. Die Seren wurden mit der angegebenen Methode auf präzipitierende Antikörper gegen Gliadin untersucht.

Die Untersuchung der Seren von 22 weiteren, nicht biopsierten Kindern ohne gastrointestinale Erkrankung sollte als Kontrolle dienen.

D) Ergebnisse

In folgender Tabelle wurden die Mucosabefunde und die Dauer der glutenfreien Ernährung mit den Untersuchungsbefunden der Antikörperbestimmung korreliert.

Patient Geschlecht Alter	Dünndarm- schleimhaut- morphologie	Antikörper Weizen (W) Roggen (R) Hafer (H)	Zeitpunkt Serumunter- suchung: Biopsie	Kost Normalkost (N) glutenfrei (gf)
- a -				
1 B.A. m., 7 10/12	1. part. ZA 2. tot.	+ R μ	= Biopsie Nr. 2	gf, inkonse- quent
2 D.S. w, 2 1/12	tot. ZA	$\emptyset$	B=S	N
3 E.R. m, 1 4/12	tot. ZA	$\emptyset$	=	N
4 G.S. w, 7	tot. ZA	+ W + R	=	N
5 G.J. w, 10/12	tot. ZA	+ W	=	N
6 G.M. m, 1 3/12	tot. ZA	+ W	=	N
7 H.S. w., 2 4/12	tot. ZA	$\emptyset$	=	1 Monat. gf, danach 6M wenig gf
8 M. C. w, 1	tot. Za	1. $\emptyset$ 2. $\emptyset$ 3. $\emptyset$	= S 1M nach B S 2M nach B	N gf 1M gf 2M
9 N.H. m., 3 4/12	1. tot. ZA 2. subtot. ZA	$\emptyset$ $\emptyset$	S 5M nach B Nr. 1 S = B Nr. 2	gf gf, Diätfehler
10 N.B. w, 1 8/12	tot. ZA	+ W + H	=	N
11 R.Th. m., 1 10/12	subtot. ZA	$\emptyset$	S 1M vor B	N
12 R.B. w., 1 2/12	subtot. ZA	+ H	=	N

13	Sch.K. w., 1 2/12	tot. ZA	+ W + R + H	=	N
14	Sch.S. w., 9/12	tot. ZA	+ W + R	S 1M nach B	gf 1 M
15	Sch.S. w., 1	subtot. ZA	Ø	=	µ N
16	Sch.M. w., 13 4/12	tot. ZA	Ø	=	wieder N, nach 2J gf
17	V.M., m., 1 8/12	subtot. ZA	+ R Ø	1. 5M nach B 2. 8M nach B	gf 5M gf 8M
18	W.S. w., 9/12	tot. ZA	+ W + H	=	N
19	W.B. m., 9/12	1. tot. ZA	+ W Ø Ø	1.S 4M nach 2.S 5 M _B Nr.1 3.S 6M	gf gf
		2. fast norm. Mucosa			
20	W.C. w., 4 5/12	tot. ZA	Ø	=	N
21	W.Cl., w., 1 4/12	subtot. ZA	+ R + H	=	N
22	W.Ch., m., 2 7/12	tot. ZA	+ W + R	=	gf, 6 Wo.
- b -					
23	B.R., w., 7 10/12	tot. ZA	Ø	1.S 7M nach 2.S 14M B	gf gf
24	D.M., m., 9/12	tot. ZA	+ W + R	S 2J nach B	N (nach gf Diät)
25	H.Ch., m., 10/12	subtot. ZA	Ø	S 2J nach B	N (nach gf Diät)
26	K.W., m., 1 7/12	subtot. ZA	Ø	S 1 J2M nach B	gf, 1J3M
27	Sch.Ch., m., 6	tot. ZA	Ø	S 8M nach B	gf Rezidif Ak Ende 1. Lj 2J gf, dann N

- c -

28	B.K., m., 1 3/12	1. tot. ZA 2. norm. M.	1. Ø 2. + R	= S 9M nach B Nr. 2	gf, 6M gf ?
29	D.Th., m., 2 1/12	1. subtot. ZA 2. norm. M.	Ø	S = B Nr. 2	gf, 1 J4M
30	F.S., m., 9/12	norm.M.	Ø	S 3M nach B	gd
31	G.D., w., 1 3/12	1. subtot. ZA 2. norm.M.	Ø	S 2M nach B Nr. 2	gf, 12M
32	G.S., w., 1 4/12	1. tot. ZA 2. part. ZA 3. part. ZA 4. norm. M.	Ø Ø	S = B Nr. 3 S = B Nr. 4	gf, 1J gf, 2J
33	H.J., w., 2 9/12	1. tot. ZA 2. norm.M.	Ø	S = B Nr. 2	gf, 1J
34	H.M.-T., w., 6/12	1. tot. ZA 2. norm. M.	Ø	S = B Nr. 2	gf, 8M
35	H.Ph., m.,	norm. M.	Ø	=	gf, 4M
36	J.S., w. 4 5/12	norm. M.	Ø	=	gf
37	L.Th., m., 7 11/12	norm. M.	Ø	=	gf, 2J6M
38	M.H., m., 1 2/12	1. part. ZA 2. norm. M.	Ø	S = B Nr. 2	gf, 6M
39	S.S., w., 7/12	1. tot. ZA	Ø	S 3M nach B Nr. 1	gf, 3M

- d -

40	B.W., m., 3 8/12	part. ZA	Ø	=	gf, 1J6M inkonseq nt
41	G.O., w. 2	1. subtot. ZA 2. part. ZA	Ø	S = B Nr. 2	gf, 4M
42	L.L., w., 8/12	1. tot. ZA 2. part. ZA	Ø	S = 10M nach B Nr. 2	gf, 1J6M

43	W.A., m., 8/12	1. tot. ZA 2. part. ZA	Ø	S = B Nr. 2	gf, 10M
----	-------------------	---------------------------	---	-------------	---------

44	F.D., w., 5 10/12	part. ZA	Ø	=	N
----	----------------------	----------	---	---	---

45	G.V., m. 1 6/12	part. ZA	Ø	=	N
----	--------------------	----------	---	---	---

46	L.H., m. 8/12	part. ZA	Ø	=	N
----	------------------	----------	---	---	---

47	N.J., m., 9/12	part. ZA	Ø	=	N
----	-------------------	----------	---	---	---

48	Ö.M., m., 1 1/12	part. ZA	Ø	=	N
----	---------------------	----------	---	---	---

49	Sch.A., w., 6/12	part. ZA	Ø	=	N
----	---------------------	----------	---	---	---

50	W.C., w., 2 9/12	part. ZA	Ø	=	N
----	---------------------	----------	---	---	---

a) Bei 22 Kindern war eine völlig flache, zottenlose Mucosa gefunden worden, und die Serumuntersuchung fand etwa zur selben Zeit wie die Biopsie statt. Die meisten der Kinder waren noch nicht oder nur kurze Zeit glutenfrei ernährt.

Bei 13 dieser 22 Kinder (59%) fanden sich präzipitierende Antikörper gegen wenigstens eines der verwendeten Mehlextrakte, bei 9 Kindern konnten keine Antikörper nachgewiesen werden. Bei 2 Kindern fanden sich Antikörper noch nach vier- und fünfmonatiger glutenfreier Behandlung, bei späterer Kontrolle waren sie nicht mehr nachweisbar. Bei keinem Patient, der länger als fünf Monate glutenfrei gelebt hatte, wurden präzipitierende Antikörper im Serum gefunden.

b) Bei 5 Kindern war bei der Biopsie ebenfalls eine totale Zottenatrophie gefunden und eine Cöliakie diagnostiziert worden, das Serum wurde aber erst nach mehreren Monaten und z.T. glutenfreier Ernährung untersucht. Dabei wurden bei einem Kind Antikörper nachgewiesen. Hier aber lag die Biopsie schon zwei Jahre zurück, und das Kind bekam nach einer glutenfreien Diätphase zum

Zeitpunkt der Serumuntersuchung wieder Normalkost.

c) Bei 12 Kindern mit einer Cöliakie, die zu einem früheren Zeitpunkt biopsiert worden waren und die entsprechenden Schleimhautveränderungen gezeigt hatten, wurde parallel zur Kontrollbiopsie das Serum auf präzipitierende Antikörper untersucht. Unter glutenfreier Diät hatte sich bei allen diesen Kindern die Mucosa regeneriert, in keinem Fall waren bei wieder normaler Dünndarmschleimhaut präzipitierende Glutenantikörper gefunden worden.

Bei einem dieser Kinder konnten 9 Monate später bei einer nochmaligen Serumprobe, möglicherweise unter inkonsequenter glutenfreier Diät, wieder Antikörper nachgewiesen werden.

d) 4 Kinder von 11 Patienten mit einer partiellen Zottenatrophie der Dünndarmschleimhaut hatten eine Cöliakie und waren bereits über fünf Monate glutenfrei anbehandelt. Die Ursache der übrigen partiellen Zottenatrophien war unklar und möglicherweise entzündungsbedingt. Präzipitierende Glutenantikörper wurden bei keinem Kind gefunden.

Die 21 Kinder mit normaler Mucosa bei Normalkost, die wegen gastrointestinaler Störungen und des Verdachts auf ein Malabsorptionssyndrom bzw. eine Cöliakie biopsiert worden waren, zeigten in keinem Fall präzipitierende Glutenantikörper. Auch bei 22 Kontrollkindern ohne gastrointestinale Erkrankung, die nicht biopsiert worden waren, ließen sich keine solchen Antikörper im Serum finden.

Zusammenfassung aller Patienten, bei denen Antikörper gegen wässrige Mehlextrakte im Serum nachweisbar waren:

	Patient	Antikörper gegen wässrige Mehlextrakte		
		Weizen	Roggen	Hafer
1	B.A.	Ø	+	Ø
2	G.S.	+	+	Ø
3	G.J.	+	Ø	Ø
4	G.M.	+	Ø	Ø
5	N.B.	+	+	Ø
6	R.B.	Ø	Ø	+
7	Sch.K.	+	+	+
8	Sch.S.	+	+	Ø
9	W.S.	+	Ø	+
10	W.B.	+	Ø	Ø
11	W.Cl.	Ø	+	+
12	W.Ch.	+	+	Ø
13	V.M.	Ø	+	Ø
14	D.M.	+	+	Ø
15	B.K.	Ø	+	Ø
15		10 x pos. +	10 x pos.	4 x pos.
		5 x neg. Ø	5 x neg.	11 x neg.

Gegen wässrige Weizen- und Roggenmehlextrakte fanden sich gleich häufig, bei 2/3 der Patienten, Antikörper, allerdings nicht gleichzeitig bei denselben Patienten. Nur bei 5 Kindern von 15 waren gleichzeitig Antikörper gegen Weizen- und Roggenmehlextrakte nachzuweisen.

Die wenigsten positiven Ergebnisse gab es bei den wässrigen Haferextrakten. Nur einmal fanden sich gleichzeitig Antikörper gegen alle drei getesteten Mehlextrakte.

In der Regel war eine Präzipitationslinie dargestellt. Zuweilen aber waren auch mehrere Präzipitationslinien zu sehen. Das ist so zu deuten, daß das Serum dieser Patienten verschiedene Anti-

körper gegen mehrere Eiweißkomponenten der Antigenlösungen enthielt.

E) Diskussion

Vergleicht man die Ergebnisse, die die einzelnen Autoren mit unterschiedlichen Methoden auf der Suche nach Gliadinantikörpern im Serum Cöliakiekranker erhielten, so ergibt sich ein breites Spektrum in der Wertigkeit ihrer Aussagekraft. Die in der Literatur aufgeführten Untersuchungen auf Serumantikörper gegen Gluten und seine Fraktionen sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Autor	Patienten	Antigene	Methodik	Gluten-Ak	D-Biopsie
Taylor et al. (1961) 103	C.: n=12 K.: n=25	Gluten III (Frazer)	HAG	C.: 75% K.: 20%	+
Heiner et al. (1962) 43	C.: n= 25 K.: n=1196	Weizen- mehlextr. (Gliadin I)	ImD	C.: 36% (40%) K.: 3,2%(0,1)	+
Pokorna et al. (1963) 76	C.: n= 27 K.: n=108	Weizen- mehlex- trakt	ImD	C.: 70% K.: 0%	Ø
Alarcon- Segovia et al. (1964) 1,E	C.: n= 17 K.: n=.17	Gluten III	HAG	C.: 88% K.: 0%	+
Kivel et al. (1964) 51, E	C.: n= 9 K.: n= 50	Gluten III (Gliadin)	ImD	C.: 29% K.: 2%	+
Berger et al. (1964) 10	C.: n= 12 K.: n=355	Gliadin	ImD	C.: 75% K.: 0%	Ø
Katz et al. (1968) 48	C.: n= 9 K.: n= 51	Gluten III	HAG (ImD)	C.: 89% (11%) K.: 0% (0%)	+
Kenrick et al. (1970) 49	C.: n= 24 K.: n= 17	Weizen- mehlextr.	ImD	C.: 29% K.: 0%	+
Rossipal (1971) 80	C.: n= 15 K.: n= 40	Mehlex- trakte	ImD + Elpho.	C.:100% K.: 0%	Ø
Ferguson +Carswell (1972) 35	C.: n= 33 K.: n= 38	Weizenmehl- extrakt	ImD	C.: 63% K.: 5%	+
Mietens (1973) 66	C.: n= 39 K.: n=103	Gliadin	KBR	C.: 77% K.: 11%	Ø
Cornell (1974) 19	C.: n= 23 K.: n= 31	pept.-trypt. verd. Gluten	HAG	C.: 61% K.: 29%	+
Baker et al. (1975) 7, E.	C.Gluten +++ n= 9 + n= 24 Ø n= 18	Gluten III	HAG	100% 42% 17%	+

Autor	Patienten	Antigene	Methodik	Gluten-AK	D-Biopsie
Rothhaue et al. (1976) 84	C.: n= 13 K.: n= 40	Weizen- mehl- extrakt	ImD	C.: 23% K.: 0%	+
eigene Untersu- chungen	C.: n= 22 K.: n= 69	Mehl- extrakte	ImD + Elpho.	C.: 59% K.: 0%	+

C. = Cöliakie
K. = Kontrolle
E. = Erwachsene

HAG = Hämagglutinationstest
ImD = Zweidimensionaler Immundiffusionstest
KBR = Komplementbindungsreaktion

Am häufigsten wurde mit der zweidimensionalen Immundiffusionsmethode nach Ouchterlony gearbeitet (10, 16, 43, 49, 76, 80). Der Geldiffusionstest wurde modifiziert durch die verschiedene Wahl der Antigene, der Lösungsmittel für die Antigene, der Puffer und des pH. Weiter resultiert die Empfindlichkeit des Antikörpernachweises aus der Quantität und den Konzentrationsverhältnissen der reagierenden Stoffe, aus Diffusionsweg und Diffusionszeit, es ergab sich so eine Vielzahl von Variationsmöglichkeiten.

Als Antigene wurden verwendet wässrige Mehlextrakte (35, 43, 80), die durch peptisch-tryptische Vorverdauung gewonnene Glutenfraktion III nach Frazer (1, 7, 37, 48, 103) und das hitzestabile Gliadin I. Beim Vergleich zwischen Mehlantigenextrakten (in Phosphatpuffer gelöst) und dem hitzestabilen Gliadin I (Heiner u. Mitarb. 43) wurden mit den wässrigen Mehlextraktlösungen nicht nur bei Cöliakiepatienten, sondern auch bei gesunden Kontrollpersonen Antikörper nachgewiesen, dagegen ergab die Verwendung des hitzestabilen Gliadins I keine solchen falschen positiven Ergebnisse. Freudenberg und Bürgin-Wolff (38) empfehlen als Antigenlösungsmittel Glycerin oder Alkohol, da schon Osborne (70) mitgeteilt hatte, daß wässrige Mehlextrakte in

Salzlösungen häufiger ausfallen und so positive Reaktionen vortäuschen können.

Rossipal, der auch wässrige Mehlextraktlösungen verwendete (80) und den zweidimensionalen Geldiffusionstest nach Ouchterlony modifiziert hatte, indem er mittels Elektrophorese eine Anreicherung der zur Kathode wandernden Gammaglobuline anstrebte, berichtete über eine auffallend hohe Zahl positiver Ergebnisse und fand keine pseudopositiven Reaktionen bei gesunden Kontrollpersonen. Diese Treffsicherheit war zuvor von keiner Untersuchungsgruppe, die mit der Ouchterlonymethode gearbeitet hatte, erreicht worden. Sie gaben nur bei 23-40% ihrer unbehandelten Patienten positive Resultate an, allerdings hatten sie im Gegensatz zu Rossipal die Dünndarmschleimhautmorphologie als diagnostisches Kriterium zugrunde gelegt (9, 16, 49, 84).

Was die Zahl der positiven Ergebnisse anbetrifft, zeigte sich im allgemeinen der Nachweis von Glutenantikörpern im Serum mit dem Hämmagglutinationshemmungstest und der Komplementbindungsreaktion dem Immundiffusionstest überlegen. Diese Testverfahren reagierten empfindlicher (1, 11, 48, 66, 103), darin lag jedoch auch ihr differentialdiagnostischer Nachteil. Zwar zeigten sie bei Cöliakiekranken häufiger hohe Antikörpertiter gegen Gliadin an, aber es wurden auch bei sehr vielen Kontrollpersonen allerdings zumeist niedrigere, doch auch vereinzelt sehr hohe Titer gefunden. Mit der Komplementbindungsreaktion wurden IgM Antikörper nachgewiesen, mit der Präzipitationsmethode dagegen IgG Antikörper. Die zweidimensionale Immundiffusionsmethode nach Ouchterlony scheint demgegenüber den Vorzug zu haben, daß ihre differentialdiagnostische Wertigkeit durch das äußerst geringe Vorkommen positiver Ergebnisse hoch einzuschätzen ist.

Legt man die Dünndarmschleimhautmorphologie als derzeit für die Cöliakie anerkannt sicherstes diagnostisches Kriterium zugrunde, so fanden sich bei uns mit der nach Rossipal modifizierten Ouchterlony-Technik bei keinem Kind mit normaler Mucosa präzipitierende Antikörper im Serum, auch bei keiner der Kontrollen.

Bei unbehandelten Patienten mit einer totalen Zottenatrophie

lag unsere positive Ausbeute bei 59%. Das lag zwar höher als die schon genannten Ergebnisse früherer Untersuchungen, erreichte aber nicht die von Rossipal angegebenen 100%. Rotthauwe und Mitarb. (84) konnten mit derselben Methode noch seltener Antikörper nachweisen. Das mag daran liegen, daß sie nur gegen Weizenmehlextrakte testeten, nicht auch gegen Roggen und Hafer. Zwar hatte Rossipal bei allen seinen Cöliakiepatienten Antikörper gegen Weizenmehlextrakte gefunden, weniger gegen die übrigen Mehlextrakte, doch wie schon aufgeführt, fanden sich bei unseren cöliakiekranken Kindern einige Male Roggenantikörper und keine Weizenantikörper wie umgekehrt.

Um zu sehen, ob die unterschiedlich hohe Zahl positiver Ergebnisse in der Durchführung der Methode begründet lag, testeten Rotthauwe und wir von Rossipal zur Verfügung gestellte Vergleichsseren mit, es ließ sich aber dabei kein Anhalt für diese Differenz finden. Entweder hatten zufällig alle 15 Cöliakiepatienten Rossipals präzipitierende Antikörper im Serum, und die Zahl war zu klein, um diese modifizierte Technik endgültig beurteilen zu können, oder aber besteht die Möglichkeit, daß doch nicht alle Patienten, wie bei den mit wässrigen Mehlextrakten durchgeführten Untersuchungen Heiners (43) und Fergusons (35), eine Cöliakie hatten, da wir nicht die Mucosamorphologie zum Vergleich haben.

Waren die Cöliakiepatienten länger als fünf Monate glutenfrei ernährt, so fanden sich im Serum keine Glutenantikörper mehr. Dies wird auch in der Literatur mitgeteilt (1, 17, 84). Berger (9) und Mietens (66) zeigten, daß die Gluten-Antikörper-Titer zu Beginn der glutenfreien Diät ansteigen können und danach wieder abfallen. Bei zwei unserer Kinder waren kurze Zeit nach Glutenentzug Antikörper zu finden. Wahrscheinlich werden zuerst die in der Darmwand gebildeten Antikörper nicht mehr sofort von dem Antigen vereinnahmt und zirkulieren so in größerer Quantität im Blut, ehe ihre Bildung nachläßt und sie ganz verschwinden. Unter einer erneuten Glutenbelastung findet man sie aber nur selten wieder (84).

So läßt sich insgesamt feststellen, daß der Nachweis präzipitierender Antikörper im Serum mit der nach Rossipal modifizier-

ten Ouchterlony-Technik ein spezifisches und somit hilfreiches Diagnostikum für das Vorliegen einer Cöliakie ist, ein negativer Befund dagegen kann die Krankheit nicht ausschließen. Nur bei etwa der Hälfte der Patienten mit einer gluteninduzierten totalen Zottenatrophie konnte ein positives Resultat beobachtet werden, auch ließen sich mit dieser Untersuchungsmethode im späteren Verlauf der Krankheit, wie mit allen übrigen indirekten Nachweismethoden, keine Aussagen mehr machen. So macht dieses Testverfahren die Dünndarmsaugbiopsie nicht entbehrlich. Die Dünndarmsaugbiopsie sollte, wenn möglich, auf alle Fälle durchgeführt werden, zumal sie keinen großen Eingriff bedeutet und der Mucosaschaden, eine totale Zottenatrophie, und damit die Diagnose "Cöliakie" am sichersten belegt werden kann.

F) Zusammenfassung

Bei 71 Kindern, die wegen eines Cöliakieverdachts oder des Verdachts auf eine andersartige Dünndarmschleimhautveränderung biopsiert worden waren und bei 22 Kontrollkindern ohne gastrointestinale Erkrankung, wurde das Serum auf Antikörper gegen wässrige Mehlextraktlösungen mit Hilfe des nach Rossipal modifizierten zweidimensionalen Geldiffusionstests untersucht. Die Ergebnisse wurden mit der Mucosamorphologie korreliert. Dabei ließen sich bei 59% der Cöliakiepatienten mit einer totalen Zottenatrophie Glutenantikörper im Serum nachweisen. Bei normaler Mucosa und allen Kontrollkindern fanden sich in keinem Fall Antikörper.

Literaturverzeichnis

- (1) Alarcon-Segovia,D., Herskovic,T., Wakim,K.G., Green, P.
A., and Sendamore, H.H.:
Amer.J.Med. 36, 485 (1964)
- (2) Albert,E.D. Harms,K., Wank, R., Steinbauer-Rosenthal,
J., Scholz,S.:
Transpl. Proceed. 5, 1785 (1973)
- (3) Aldersberg,D., Colcher,H., Drachmann,S.:
Gastroenterology 19, 674 (1951)
- (4) Allen,Th., Vest, M.:
Zeitschr.für Kinderheilk. 97, 75 (1966)
- (5) Badenoch,J., Callender,S.T.:
Lancet 1, 192 (1960)
- (6) Baker,S.J., Hughes,A.:
Lancet 2, 686 (1960)
- (7) Baker,P.G., Barry,R.E., Read,A.E.:
Brit.med.J. 486 (1975)
- (8) Barnes,G.L., Townley,R.R.W.:
Arch.Dis.Childh. 48, 343 (1973)
- (9) Berger,E.:
Ann.paediat. (Basel) Suppl. 67 (1958)
- (10) Berger,E., Bürgin-Wolff,A., Freudenberg,E.:
Klin.Wschr. 42, 788 (1964)
- (11) Berger,E., Freudenberg,E.:
Schweiz.med.Wschr. 93, 549 (1963)
- (12) Booth,C.C.:
"Coeliac Disease" Ed.W.Th.J.M.Hekkens and
A.S.Pena Stenfert Kroese, Leiden, p.17 (1974)

- (13) Boyden, S.V.:
J.exp.Med. 93, 107 (1951)
- (14) Brandborg, L.L., Rubin, C.E., Quinton, W.E.:
Gastroenterology 37, 1 (1959)
- (15) Brown, A.L.Jr.:
J.cell.Biol. 12, 623 (1962)
- (16) Carswell, F., Ferguson, A.:
Arch.Dis.Childh. 47, 594 (1972)
- (17) Carswell, F., Ferguson, A.:
Arch.Dis.Childh. 48, 583 (1973)
- (18) Cooke, W.T.:
"Coeliac Disease" Ed.C.C.Booth and R.H. Dowling
Churchill Livingstone, London, p.198 (1970)
- (19) Cornell, H.J.:
Arch.Dis.Childh. 49, 454 (1974)
- (20) Croft, D.N., Loehry, C.A., Creamer, B.:
Lancet 2, 68 (1968)
- (21) Crosby, W.H., Kugler, H.W.:
Amer.J.Dig.Dis. 2, 236 (1957)
- (22) Dicke, W.K.:
Coeliakie Thesis Univ.Utrecht (1950)
- (23) Dicke, W.K., Weijers, H.A., van de Kamer, J.H.:
Acta paed.(Uppsala) 42, 34 (1953)
- (24) Délèze, G. et D.Nusslé:
Helv.paediat.Acta 30, 135 (1975)
- (25) Doe, W.F., Booth, C.C., Brown, D.C.:
Lancet 1, 402 (1973)

- (26) Doe,W.F., Henry,K., Booth,C.C.:
 "Coeliac Disease" Ed.W.Th.J.M.Hekkens and
 A.S.Pena Stenfert Kroese, Leiden, p.189 (1974)
- (27) Dolly,J.O., Fottrell,P.F.:
 Clin.Chim.Acta 26, 555 (1969)
- (28) Douglas,A.P.:
 "Coeliac Disease" Ed.W.Th.J.M.Hekkens and
 A.S.Pena Stenfert Kroese, Leiden, p. 399 (1974)
- (29) Evans, D.H.P.:
 Lancet 2, 1096 (1973)
- (30) Falchuk,J.M., Rogentine, G.N., Strober,W.:
 J.clin.Invest. 51, 1602 (1972)
- (31) Falchuk,J.M., Strober,W.:
 Gut 15, 947 (1974)
- (32) Fanconi,G.:
 Beih.Jb.Kinderheilk.Nr. 21 Berlin S. Karger (1928)
- (33) Ferguson,A.:
 "Coeliac Disease" Ed.W.Th.J.M.Hekkens and
 A.S.Pena Stenfert Kroese, Leiden, p.286 (1974)
- (34) Ferguson,A.:
 "Coeliac Disease" Ed.W.Th.J.M.Hekkens and
 A.S.Pena Stenfert Kroese, Leiden, p. 265 (1974)
- (35) Ferguson,A., Carswell,F.:
 Brit.med.J. 1, 75 (1972)
- (36) Fontaine,J., Nawarro,J.:
 Arch.Dis.Childh. 50, 357 (1975)
- (37) Frazer,A.C., Fletcher,R.F., Ross,C.A.C., Shaw,B.,
 Sammons,H.G., Schneider,R.:
 Lancet 2, 252 (1959)

- (38) Freudenberg, E., Bürgin-Wolff, A.:
Z.Kinderheilk. 93, 46 (1965)
- (39) Gee, S.J.:
St.Barth.'s Hosp.Rep. (London) 24, 17 (1888)
- (40) Grybowski, J.D., Katz, J., Reynolds, D., Herskovic, T.:
Annals of Allergy 26, 33 (1968)
- (41) Haas, S.V.:
Amer.J.Dis.Childh. 28, 421, (1924)
- (42) Harms, K.:
Z.Kinderheilkunde 1114, 221 (1973)
- (43) Heiner, D.C., Lahey, M.E., Wilson, J.F., Gerrard, J.W.,
Shwachman, H., Khaw, K.T.:
J.Pediatr. 61, 813 (1962)
- (44) Herter, G.A.:
"On infantilism from chronic intestinal in-
fection". New York, Macmillan Company (1908)
- (45) Heubner, O.:
Jb.Kinderheilkunde 70, 667 (1909)
- (46) Jos, J.:
"Etudes des syndromes de malabsorption".
R.Foulon + Cie. Paris (1962)
- (47) van de Kamer, J.H., Weijers, H.A.:
Acta.paed. 44, 465 (1955)
- (48) Katz, J., Kantor, F.S., Herskovic, T.:
Ann.intern.Med. 69, 1149 (1968)
- (49) Kenrick, K.G., Walker-Smith, L.A.:
Gut 11, 635 (1970)
- (50) Kerry, K.:
"Paediatric Gastroenterology" Ed.Ch.M.Anderson

an V. Burke, Blackwell Oxford, p. 126 (1975)

- (51) Kivel,R.M., Kearns, D.H., Liebowitz,A.B.:
New Engl.J.Med. 271, 769 (1964)
- (52) Krainick,H.G., Mohn,G., Fischer,H.H.:
Helv.paed.Acta 14, 124 (1959)
- (53) Kuitunen,P.:
Ann.Paediat.Fenn. 12, 101 (1966)
- (54) Kuitunen,P., Visakorpi,J.K., Savilahti,F.,
Pelkonen,P.:
Arch.Dis.Childh. 50, 351 (1975)
- (55) Lehndorff,H., Mautner,H.:
Ergeb.inn.Med.Kinderheilk. 31, 456 (1927)
- (56) Lentze,M., Schaub,J., Harms,K.:
Clinica Chimica Acta 49, 19 (1973)
- (57) Lentze,M., Schaub,J., Harms,K.:
Clinica Chimica Acta 33, 30 (1971)
- (58) Lindberg,T., Norden,N., Josefsson,L.:
Scand.J.Gastroent. 3, 177, (1968)
- (59) Lojda,Z., Fric,P., Jodl,J., Chelnik,V.:
Erg.Path. 52, 1 (1970)
- (60) Ludwig,H., Polymenidis,J., Granditsch,G., Wick,G.:
J.Immun.Forsch. 146, 158 (1973)
- (61) McCarthy,C.F., Gough,K.R., Rodriguez,M., Read,A.E.:
Brit.med.J. 1, 1620 (1964)
- (62) McNeish,A.S., Nelson,R., Mackintosh,P.:
Lancet 1, 668 (1973)
- (63) McNeish,A.S., Rolles,C.J., Thompson,R.A.:
"Coeliac Disease" Ed.W.Th.J.M.Hekkens and
A.S.Pena Stenfert Kroese, Leiden, p.297 (1974)

- (64) McNicholl, B., Egan-Mitchell, B. Fottrell, P.F.:
 "Coeliac Disease" Ed. W.Th.J.M.Hekkens and
 A.S.Pena Stenfort Kroese Leiden, p. 413 (1974)
- (65) Meeuvisse, G.
 Acta paediat.scand. 59, 461 (1970)
- (66) Mietens, C.:
 Pädiat.Pädol. 8, 68 (1973)
- (67) Mietens, C.:
 Zeitschr.für Kinderheilk. 99, 254, (1967)
- (68) Mortimer, P.E., Stewart, J.S., Norman, A.P., Booth, C.C.:
 Brit.med.J. 3, 7 (1968)
- (69) Nusslé, D., Frei, J., Bozic, C., Gautier, E.:
 "Coeliac Disease" Ed.C.C.Booth and R.H.Dowling
 Churchill Livingstone, London, p.45 (1970)
- (70) Osborne, T.B.:
 "Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden II"
 Berlin-Wien: Urban und Schwarzenberg, p.270 (1910)
- (71) Ouchterlony, O.:
 Progr.Allergy 6, Ed.P.Kallos and B.H.Waksmann,
 Karger, Basel and New York, p. 30 (1958)
- (72) Padykula, H.A.E., Strauß, E.W., Ladman, A., Gordner, F.H.:
 Gastroenterology 40, 735 (1961)
- (73) Partin, J.C. and W.K. Schubert:
 New Engl.J.Med.275, 94 (1966)
- (74) Phelan, J.J., McCarthy, C.F., Stevens, F.M., McNicholl,
 B., Fottrell, P.F.:
 "Coeliac Disease" Ed.W.Th.J.M.Hekkens and
 A.S.Pena Stenfort Kroese, Leiden, p. 60 (1974)

- (75) Pink,J., Croft,D.N., Careamer,B.:
Gut 11, 217 (1970)
- (76) Pokorna,M., Sourek,J., Svejcar,J.:
Helv.Paed.Acta 5, 393 (1963)
- (77) Rolles,C.J., Kendall,M.J., Nutter,S., Anderson,C.M.:
Lancet 2, 1043 (1973)
- (78) Rolles,C.J., Anderson,C.M., McNeish,A.S.:
Arch.Dis.Childh. 50, 259 (1975)
- (79) van Rood,J.J.:
"Coeliac Disease" Ed.W.Th.J.M.Hekkens and
A.S.Pena Stenfert Kroese, Leiden, p. 10 (1974)
- (80) Rossipal,E.:
Z.Kinderheilk. 110, 188 (1971)
- (81) Rossipal,E.:
"Coeliac Disease" Ed.W.Th.J.M.Hekkens and
A.S.Pena, Stenfert Kroese, Leiden, p.200 (1974)
- (82) Rossipal,E.:
ibiol. p.76 (1974)
- (83) Rossipal,E.:
Lancet 1, 251 (1970)
- (84) Rotthauwe,H.W., Sennekamp,J., Emans,D., Becker,M.:
Europ.J.Pediat. 121, 215 (1976)
- (85) Rubin,C.E., Eidelman,S., Weinstein,W.M.:
Gastroenterology 58, 409 (1970)
- (86) Sakula,J. and M.Shiner:
Lancet 2, 876 (1957)
- (87) Sheldon,W. and E.Tempany:
Gut 7, 481 (1966)

- (88) Sheldon, W.:
Brit.med.J. 2, 401 (1969)
- (89) Shiner, M.:
Lancet 1, 17 (1956)
- (90) Shiner, M.:
Lancet 1, 85 (1956)
- (91) Shiner, M.:
"Coeliac Disease" Ed.W.Th.J.M.Hekkens and
A.S.Pena, Stenfert Kroese, Leiden, p. 121 (1974)
- (92) Shiner, M. and J.Ballard:
Lancet 1, 1202 (1972)
- (93) Shiner, M. and M.S.C.Birbeck:
Gut 2, 277 (1967)
- (94) Shiner, M., Shmerling, D.H.:
Digestion 5, 69 (1972)
- (95) Shmerling, D.H.:
Helvet.paediat.Acta Suppl. 22 (1970)
- (96) Shmerling, D.H.:
Pädiat.Fortb.Praxis, Vol. 30,
S.Karger, Basel p.86 (1971)
- (97) Shmerling, D.H., Auricchio, S., Rubino, A., Hadorn, B.,
Prader, A.:
Helvet.paediat.Acta 19, 507 (1964)
- (98) Shmerling, D.H. and M.Shiner:
"Coeliac Disease" Ed.C.C.Booth and R.H.Dowling
Churchill Livingstone, London, p.64 (1970)
- (99) Shmerling, D.H. and S.M.Zimmerli-Häring:
Helvet.paediat.Acta 26, 565 (1971)

- (100) Stewart,J.S., Polloch,P.J., Hoffbrand,A.V., Mollin,
D.J., Booth,C.C.:
Quart.J.M.26, 425 (1967)
- (101) Stokes,P.L., Asquith,P., Holmes,G.K.T., Mackintosh,P.,
Cooke,W.T.:
Lancet 2, 162 (1972)
- (102) Strober,W.:
"Coeliac Disease" Ed.W.Th.J.M.Hekkens and
A.S.Pena, Stenfert Kroese, Leiden, p.203 (1974)
- (103) Taylor,K.B., Thompson,D.L., Truelove,S.C.,
Wright,R.:
Brit.med.J. 2, 1727 (1961)
- (104) Taylor,K.B., Truelove,S.C., Wright,R.:
Gastroenterology 46, 99 (1964)
- (105) Visakorpi,J.K.:
"Coeliac Disease" Ed.W.Th.J.M.Hekkens and
A.S.Pena, Stenfert Kroese, Leiden, p.10 (1974)
- (106) Visakorpi,J.K., Kuikunen,P., Pelkonen,P.:
Acta paed.Scand. 59, 273 (1970)
- (107) Visakorpi,J.K., Savilahti,E.:
"Coeliac Disease" Ed.C.C.Booth and R.H.Dowling
Churchill Livingstone, London, p.224 (1970)
- (108) Walker-Smith,J.A.:
Arch.Dis.Childh. 42, 626 (1967)
- (109) Weijers,H.A., Drion,E.F., van de Kamer,J.H.:
Acta paed. 49, 615 (1960)
- (110) Yardley,J.H., Bayless,T.M., Norton,J.H., Hendrix,T.R.:
New Engl.J.Med. 267, 1173 (1962)

Lebenslauf

Brigitte Carrier, geb. 9.2.1944 in Neu-Ulm, als erstes von zwei Kindern des Gewerbestudienrats Bruno Carrier und seiner Frau Elisabeth, geb. Thumm.

Nach dem Besuch der Grundschule in Neu-Ulm und des Gymnasiums in Ulm Reifeprüfung 1964.

Medizinstudium in München, dort 1970 medizinisches Staatsexamen.

Nach der Medizinalassistentenzeit an Münchner Kliniken 1972 Approbation.

1973 Beginn mit der Facharztausbildung für Anästhesie an der Universität München, zuerst am Institut für Anästhesiologie und seit Ende 1975 in der Abteilung für Anästhesie der Kinderchirurgischen Klinik tätig.

Nachwort

Herrn Privatdozent Dr. med. K. Harms, unter dessen
Leitung und Betreuung diese Arbeit entstand, fühle
ich mich zu großem Dank verpflichtet.

